第19卷 第2期
1976年5月
昆虫学报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
Vol. 19, No. 2
May, 1976

棉铃虫核多角体病毒病的观察及田间试验

湖北省荆州地区微生物站
华中师范学院生物系生防组

摘要 自1973—1974年以来,在湖北荆州地区微生物站筛选出一批棉铃虫病毒毒株,其毒力均为80%以上,有的高达100%。其中毒力较强而又比较稳定的VHA-273,经病虫组织切片观察,确定其为核多角体病毒。1974—1975年除对棉铃虫病毒病的组织病理变化作了初步观察外,又继续在室内外对病毒的毒力、剂量与虫龄、温度的关系,及寄主饲料对病毒产量的影响等,进行了一系列的试验,并用VHA-273生产部分病毒,为大田防治试验作了准备。

1975年7—9月,用VHA-273生产的病毒,在湖北公安县雷州公社约102亩的早发棉田进行示范试验,对第2代及第4代棉铃虫的防治效果,先后调查了5次,最后对试验田、对照田及邻田又作了天敌调查,结果均表明试验田的虫口下降率,花、蕾及青铃受害率等,均低于1605+DDT及西维因的对照田,为棉田的生物防治提供了有希望的微生物农药。

VHA-273棉铃虫核多角体病毒,对烟青虫的毒力很强,对两种害虫能交叉感染。因此,它可用于烟青虫的防治。

前　　言

棉铃虫[*Heliothis armigera* (Hubner)]属于夜蛾科(Noctuidae)。棉铃虫属(*Heliothis*)的种类很多,为害性极大,分布也很广,其中棉铃虫更是世界性的大害虫。它在我国也是棉花的三大蛀虫之一,1970年以来,在各大棉区对棉花蕾铃期的为害特别猖獗,发生严重的地区,可使棉花减产20—30%,对棉花生产造成极大损失。目前国内外正开展生物防除的方法对其进行防治。

据文献报道,棉铃虫属至少有5种对核多角体病毒比较敏感,并能发病死亡。这5种是:玉米夜蛾或棉夜蛾(*Heliothis zea*),烟夜蛾(*H. virescens*),棉铃虫(*H. armigera*),*H. obtectus* 及 *H. phloxiphaga*,其中研究得比较多的是第一、二种(Ignoffo, 1965)。最近还报道了这个属的另一种夜蛾 *H. punctigera* 感染颗粒体病毒,并能发病死亡(Teakle, 1974)。因此,现在已知这个属有6种昆虫能感染多角体和颗粒体病毒。

有关棉铃虫这个种病毒的研究和利用,过去国外有些报道(Bergold & Ripper, 1957; Coaker, 1958; Gitay & Polson, 1971; Daoust, 1974; Whitlock, 1974),但在国内除会议资料及通讯外(华师生物系生防组,1975),尚少正式报告发表。本文用棉铃虫的核多角体病毒VHA-273首次对棉铃虫进行较大面积的大田防治试验,并对棉铃虫病毒病的病理变化作了初步探讨。在试验过程中,我们曾用棉铃虫病毒对烟青虫(*H. assulta* 或烟草蛾)进行交叉感染,获得成功。因此,棉铃虫属能被病毒感染的已增加到7种之多。

材 料 与 方 法

棉铃虫核多角体病毒来自湖北荆州地区几个大棉区采回的自然死亡的虫体。自1973—1974年以来,经过镜检死虫样品,确定病原病毒后,即用碾碎虫尸制成悬浮液(未提纯

计数)涂在饲料面的方法,在实验室对 3—4 龄幼虫反复进行感染试验,得到几个毒力较强的毒株。杀虫效果均在 80% 以上,有的高达 100%。1975 年,我们选了其中毒力较强而又较稳定的一株 VHA-273,进行小批量生产,并在大田进行示范试验。

用于生产病毒的虫源,一部分是在室内饲养,一部分是从田间采回的棉铃虫和烟青虫的 3—4 龄幼虫。病毒制剂是将病虫碾碎,无菌水稀释,用 3—4 层纱布过滤,得到粗制多角体病毒悬浮液,用血球计数计测数,使用前加活性炭作保护剂,每 2×10^9 个多角体(PIBs)加活性炭 1 克,超微量喷雾减半。

多角体病毒标本的涂片染色,是采用什维佐娃(Швецова)法。组织切片是用波因(Bouin)氏液固定尚未死亡的病虫,按常规组织切片法脱水,冬青油透明,石蜡包埋,切片厚 7 微米,达氏苏木精染色,5% 伊红或快绿复染,用加拿大树胶加盖玻片封存备用。

大田试验是在湖北公安县雷州公社进行的,试验总面积为早发棉田约 102 亩。试验前进行虫口(卵)的基数普查,施药后 5 天及 7 天进行调查,采用定株、定虫(卵)和五点取样法。用 1605 加 DDT 及 25% 西维因作对照。其他棉田全年打化学农药防治蕾铃期害虫 7—9 次,人工捉虫 2—5 次,而病毒试验田只打药防治其他蕾铃期害虫 3 次,不用人工捉虫,喷施 3 种不同剂量的粗制病毒悬浮剂 4—5 次。试验自 7 月上旬开始,至 9 月上旬结束。

棉铃虫核多角体病毒病的特征及病理变化

棉铃虫幼虫感染核多角体病毒后,在潜伏期可不表现任何症状。四、五天后常不宁静,到处爬行,并停止取食,最后用腹足倒挂在植物或指管顶端而死,这是病毒病的一个特征。这种病虫表现为暗褐色,但皮肤有退色现象,并有时带灰白色,同时体躯膨大。内部器官及表皮细胞多数已被侵染,细胞核内充满多角体,细胞及组织开始液化解体,故虫体及表皮脆软,一触即破,流出褐色或灰白色浓液,如无细菌污染,一般无臭气,这是核多角体病毒病又一重要特征。

幼虫对核多角体病毒的敏感性随龄期而变化。据我们的试验结果,第一、二龄用同一剂量(1×10^6 PIBs/毫升)感染后,一龄死亡高峰为 6 天,二龄则为 8 天,死亡率分别为 85% 及 80%;用 5×10^7 PIBs/毫升的浓度感染后,三龄及四龄的死亡高峰分别为 5 天及 6 天,死亡率分别为 73% 及 60%。可见一龄最为敏感。但也有人报道二龄最为敏感(Coaker, 1958)。

病毒在幼虫体内的增生复制,其数量多少是与饲料密切相关。据我们的试验,用菜苔花蕾饲养的幼虫,产生多角体数量最多,平均每头可收到 6.25×10^8 个 PIBs; 为我们生产病毒及大田试验提供依据。因此,我们在生产病毒时,常选择 3—4 龄的幼虫进行感染,并尽可能用菜苔饲养,这样的幼虫虽不如一、二龄那么敏感,但感染后其死亡时间延长,可收取较多量的多角体。

从棉铃虫的核多角体涂片观察,其多角体有大小差异,直径为 1.25—5.0 微米,有六边形,五边形,也有四边形的(图版 I:1)。所有病虫,大都死于幼虫期,并表现出典型的脂肪体及表皮层等细胞的病变,仅极少数能成长化蛹。从病虫的组织切片观察,核多角体主要侵袭的组织有脂肪体、表皮层、气管基质(图版 I:2, 3, 4)及血细胞等。在这些细胞中,

可以清楚地看到胞核膨大，核内充满多角体，因而细胞也随之胀大，表皮层增厚。这与 Whitlock (1974) 所观察的完全相符。

另外，据我们的观察，尚未见到棉铃虫的肌肉组织被侵染。其他组织，则以脂肪组织最为敏感，最早被侵染，最先液化解体；其次为表皮细胞层，气管基质等。

用核多角体病毒防治棉铃虫的大田试验

我们在试验前成立了有领导、技术干部和贫下中农相结合的领导小组，制订了以病毒为主的综合防治措施。由于第一代棉铃虫在田外，第三代一般发生量较小，所以只进行了第二代与第四代的棉田防治试验。

（一）用病毒防治第二代棉铃虫的试验　第二代的施药时间为 7 月 3 日及 4 日，调查时间为 7 月 8 日及 10 日。虫龄约 1—3 龄。三种不同的剂量为：1.5×10^{10}, 3×10^{10} 及 6×10^{10} PIBs/亩。对照药剂为 2,000 倍的 1605 加 200 倍的 DDT。超微量喷雾是每亩 330 毫升，背式喷雾是每亩 50 斤液。试验结果见表 1。

表 1　VHA-273 防治第二代棉铃虫的效果

处理	虫口下降率(%)			备注
	第一次调查	第二次调查	平均	
1.5×10^{10} PIBs/亩	93.3	100.0	96.7	超微喷雾
3×10^{10} PIBs/亩	77.0	87.0	82.0	”
3×10^{10} PIBs/亩	93.8	93.8	93.8	背式喷雾
6×10^{10} PIBs/亩	77.0	77.0	77.0	超微喷雾
DDT+1605	40.0	80.0	60.0	背式喷雾

（二）棉铃虫第四代的病毒防治试验　在用多角体病毒防治第四代棉铃虫的试验中，我们除用西维因及 DDT 加 1605 作对照外（西维因第一次为 200 倍，第二、三次均为 300 倍），还用了 1,000 倍的西维因和每毫升含 1×10^{7} 个孢子的青虫菌加入到 3×10^{10} PIBs/亩的病毒液混合使用，以与单独用 3×10^{10} PIBs/亩病毒制剂相比较。施药三次，分别为 8 月 14 日，23 日及 30 日，调查三次，分别为 8 月 22 日，30 日及 9 月 5 日。调查结果如表 2。

表 2　VHA-273 与其他农药防治棉铃虫的效果比较

处理项目	虫口下降率(%)	花害率(%)	蕾害率(%)	青铃受害率(%)	备注
病毒	87.5	0.9	3.3	2.9	① 调查采用五点取样法
病毒(超微)	85.7	0.7	5.5	3.2	② 虫口下降率为第一次调查数，其余均为第二、三次调查的平均数
西维因	71.4	2.7	5.6	2.1	
西维因+病毒	95.4	0.3	4.7	4.4	
青虫菌+病毒	82.6	0.8	5.1	2.8	
DDT+1605	73.9	6.6	12.3	7.9	

（三）病毒防治后的大田普查　用病毒防治第四代棉铃虫第三次施药后，对试验田四周用化学农药防治的大田，就虫量、蕾害、花害及青铃受害率等方面进行普查，其结果如表 3。

表 3 病毒防治后的大田普查结果

田块 \ 调查项目	虫量 有虫株	虫量 百株量	蕾害率(%)	花害率(%)	青铃受害率(%)	备注
病毒试验田	8	8	4.0	0.8	5.0	① 调查采五点取样法 ② 调查蕾、花及青铃数均为500个
DDT + 1605 田	36	46	12.6	6.3	6.8	
路西大田(六队)	30	33	21.6	2.4	8.4	
路北大田(六队)	39	45	20.4	6.6	6.8	
路南大田(五队)	29	33	11.3	14.0	7.0	
路东大田(八队)	24	32	15.4	11.4	8.4	

(四) 棉田的天敌普查 除试验田外,生产队的所有田块使用化学农药均在十次以上(包括苗期防虫),所用的农药,有 1605, DDT, 敌敌畏,敌百虫,西维因,乐果等。我们就化学农药及生物防治对害虫天敌的影响,在试验田及其相邻田块,作了主要害虫的天敌普查,结果除个别情况外,三种主要天敌:草蛉、瓢虫及蜘蛛的数量,试验田均较邻田为高(表 4)。

表 4 病毒试验田及四邻棉田的天敌调查结果

田块 \ 天敌类别	草蛉 成虫	草蛉 卵	草蛉 幼虫	瓢虫 成虫	瓢虫 卵	瓢虫 幼虫	蜘蛛	食蚜蝇	小茧蜂	姬蜂	备注
病毒试验田	36	635	74	10	80	216	63	3	27	6	① 调查时间为9月5日及6日 ② 调查数均为100株
1605 + DDT 对照	10	380	23	1	63	62	62	4	—	—	
路北大田(六队)	7	342	28	7	41	1	1	3	—	—	
路东大田(八队)	12	274	12	6	18	8	8	2	—	—	
路西大田(六队)	10	514	24	7	126	31	31	—	12	—	
路南大田(五队)	8	261	12	17	143	23	23	—	—	—	

问 题 讨 论

1. 关于棉铃虫病毒的毒力问题,这是与病毒的毒株有关。有相当多的事实证明同一寄主的病毒,由于毒株不同,其毒力亦有差异。我们在 1974 年从棉铃虫分离筛选出来的 VHA-273, VHA-251 及 VHA-05 等,其毒力即有一定的差异。又如 VHA-273 这个毒株,其多角体的大小,也有很大差异,自 1.25 微米至 5.0 微米(图版I:1)。据国外报道,病毒毒力的差别,一方面是毒株不同的关系,一方面则是与多角体的大小有关,即与所谓"多粒包埋病毒"(MEV)和"单粒包埋病毒"(SEV)有关,前者为大形的多角体,其中的病毒粒子多个成束地被包埋,后者是小形多角体,病毒粒子单个分散地被包埋,其毒力一般是 MEV 要比 SEV 为强 (Heimpel & Adams, 1966; Shapiro & Ignoffo, 1970; Vail 等, 1971)。至于棉铃虫病毒是否如此,尚待进一步研究。

另外,病毒毒力的强弱,还与病毒是否经过离心机提纯或是粗制有关。据我们试验的结果是粗制剂效果较好。如用 VHA-273 的粗制剂和提纯的 NPV, 剂量均为 5×10^5PIBs/毫升,在第 7 天检查棉铃虫幼虫的死亡率,分别为 75% 和 57%。在用较低剂量的 1×10^5 PIBs/毫升试验中,第 7 天的死亡率,分别为 63% 和 50%。两次不同剂量的试验中,两者

均表现差异，原因何在，还不清楚。这种差异，过去也有过报道（Ignoffo, 1966; Daoust, 1974）。因此，1975 年我们大田试验的病毒液都是粗制剂。

2. 关于在大田使用病毒的剂量问题，这是与虫龄及前面所提到的毒株的毒力有关。我们在大田防治试验中，用了 VHA-273 粗制剂，有效剂量为 1.5×10^{10} 及 3×10^{10} PIBs/亩，效果比较好（表 1、2）。但是有人在高粱地对棉铃虫的防治试验中，其剂量为 5.02×10^{6} PIBs/毫升（Roome, 1971）；也有人用 6×10^{11} PIBs/英亩防治玉米田及棉田的玉米夜蛾（Ignoffo, 1965），其效果与我们的相似，但其所使用的浓度较大，可能其中也有不同毒株的毒力差别。

在虫龄方面，前面提到的 VHA-273 的同一剂量的粗制剂，对一、二龄及三、四龄幼虫的效果是不同的。因此可以肯定毒株的毒力、虫龄及剂量三者之间有密切关系，在大田试验中，必须考虑到这些因素。另外，温度也是一个因素，我们的试验结果是棉铃虫一般在 33℃ 以上则不易感染，特别是老龄幼虫（5—6 龄）表现更是这样。

3. 关于病毒的交叉感染，这是与病毒专一性有关的复杂问题。我们曾用棉铃虫的 VHA-273 感染多种夜蛾，目前成功的只有烟青虫，并且又把从烟青虫获得的 NPV，再对棉铃虫进行交叉感染，也获得成功。这进一步证实在棉铃虫这个属内，非但玉米夜蛾（*H. zea*）的病毒能与烟夜蛾（*H. virescens*）交叉感染，而且棉铃虫（*H. armigera*）的病毒也能与烟青虫（*H. assulta*）交叉感染。这种同一个属或不同属害虫的病毒交叉感染，在害虫的生物防治中有重要意义，尚待进一步研究。

4. 关于棉铃虫病毒的生产问题，这对今后推广应用有一定关系。目前，病毒的生产方法，一种是活体培养，即采集或饲养幼虫，用病毒感染而收取；一种是用寄主的组织离体培养而获得。国外对用活体培养及用各种昆虫组织建立细胞株系来生产病毒，已作了些工作（Ignoffo 等，1971; Ignoffo & Hostetter, 1974），用高等动物的细胞来培养 NPV，也在试验中。无论是用哪一种方法复制病毒，都还要作很大的努力，但这已为大量生产昆虫病毒，提供了线索和技术基础，我们也有条件进一步从这些方面开展工作，为今后大面积推广应用昆虫病毒贡献力量。

参考资料

华师生防科研组等　1975　两种多角体昆虫病毒的毒力试验初报。河北省植保土肥资料之十一，29—33。

朱国凯等　1975　桑毛虫核多角体病毒病和田间防治试验。微生物学报 **15**(2):93—100。

黄冠辉等　1975　斜纹夜蛾核多角体病毒病的研究。昆虫学报 **18**(1):17—24。

Bergold, G. H. & W. E. Ripper　1957　The polyhedral virus of *Heliothis armigera* Hbn. *Nature* **180**:764—5.

Coaker, T. H.　1958　Experiments with a virus disease of the cotton bollworm, *H. armigera* (Hbn.). *Ann. Appl. Biol.* **46**:536—54.

Daoust, R. A.　1974　Weight-related susceptibility of larvae of *H. armigera* to crude NPV preparation. *J. Inv. Path.* **23**:400—1.

Gitay, H. & A. Polson　1971　Isolation of GV from *H. armigera* and its persistence in avian feces. *J. Inv. Path.* **17**:288—90.

Heimpel, A. M. & J. R. Adams　1966　A new NPV of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *J. Inv. Path.* **8**:340—6.

Ignoffo, C. M.　1965　The NPV of *H. zea* & *H. virescens* I. Virus propagation and its virulence. *J. Inv. Path.* **7**:209—16.

Ignoffo, C. M.　1966　Effect of age on mortality of *H. zea* & *H. virescens* larvae exposed to NPV. *J. Inv. Path.* **8**:279—82.

Ignoffo, C. M., A. J. Chapman & D. F. Martin 1965 The NPV of *H. zea* & *H. virescens* III. Effectiveness of the virus against field population of *Heliothis* on cotton, corn, & grain sorghum. *J. Inv. Path.* 7:227—35.

Ignoffo, C. M. & D. L. Hostetter 1974 Efficacy of insect virus propagated in vivo & in vitro. *J. Inv. Path.* **24**:184—7.

Ignoffo, C. M., M. Shapiro & W. F. Hink 1971 Replication and serial passage of infectious *Heliothis* NPV in an established cell line of *H. zea* cells. *J. Inv. Path.* **18**:231—7.

Roome, R. E. 1971 A note on the use of biological insecticides against *H. armigera* in Botswana. Proc. Cotton Inst. Cont. conf. 221—38.

Shapiro, M. & C. M. Ignoffo 1970 Nucleopolyhedrosis of *Heliothis*: Activity of isolates from *H. zea*. *J. Inv. Path.* **16**:107—11.

Teakle, R. E. 1974 A granulosis virus from *H. punctigera*. *J. Inv. Path.* **23**:127—9.

Vail, P. V., G. Sutter, D. L. Jay & D. Gough 1971 Reciprocal infectivity of NPV of cabbage looper & alfalfa looper. *J. Inv. Path.* **17**:383—8.

Whitlock, V. H. 1974 Symptomology of two viruses infecting *H. armigera*. *J. Inv. Path.* **23**: 70—5.

OBSERVATIONS ON THE NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS OF THE COTTON BOLLWORM AND ITS FIELD TESTS IN BOLLWORM CONTROL

MICROBIAL EXPERIMENTAL STATION OF CHINCHOW DISTRICT, HUPEH PROVINCE

BIOLOGICAL CONTROL SECTION, DEPARTMENT OF BIOLOGY,

HUA-CHUNG TEACHERS COLLEGE

This paper reports the results of studies on the nuclear polyhedrosis virus of the cotton bollworm *Heliothis armigera*. The virus was isolated in 1974 from dead bollworms collected from cotton fields in Chinchow district of Hupeh Province. It was designated as VHA-273.

It is observed that the polyhedra are hexagonal, pentahedron, cubical or irregular in shape, varying from 1.25 to 5.0 μ in diameter. Serious pathological changes were in the fat-body, epidermis, tracheal matrix and other tissues of the diseased insects and the former two seemed to be the most susceptible tissues. The muscle bundles were not affected.

Our bioassay showed that the susceptibility of the larvae to the NPV varied with dosage, larval instar and temperature. The first and second instars were the most susceptible stages; and their mortality rates at 1×10^6 PIBs/ml were 85% and 80% and the time lasting were 6 and 8 days respectively. Larvae of fifth and sixth instars were not so susceptible, especially when the temperature exceeded 33°C. Cross infections of the NPV with tobacco budworm, *Heliothis assulta*, was successful.

In 1975, from July to September, field tests with the NPV to control bollworms were made in cotton fields about 102 mu's at Kung-an County of Hupeh Province. The concentrations used were 1.5×10^{10} PIBs/mu, 3×10^{10} PIBs/mu and 6×10^{10} PIBs/mu. The results showed that the NPV was better than the chemical insecticides 1605 + DDT. Combined use of the NPV with dilute sevin and *Bacillus thuringiensis* suspensions were also tested; and the results were either better or as effective as the NPV or sevin used alone.

The application of the NPV VHA-273 to control bollworms in the field seems promising.